

Die biologische Prüfung von Füllungsmaterialien am Göttinger Miniaturschwein – eine Pilot-Studie

Von G. Schmalz*, Tübingen

Die technischen Voraussetzungen für die Verwendung von Miniaturschweinen anstelle von Primaten im Rahmen einer standardisierten Testung zahnärztlicher Füllungsmaterialien auf Pulpaübertragbarkeit sind als günstig anzusehen. Eine Übertragbarkeit der histologischen Ergebnisse auf den Menschen erscheint möglich, was jedoch durch weitere Untersuchungen untermauert werden muß.

Einleitung

Das neue Arzneimittelgesetz [5] fordert biologische Unbedenklichkeit auch für zahnärztliche Materialien. Die in verschiedenen Spezifikationsentwürfen [1, 12] u. a. enthaltenen Pulpa-Tests werden dabei als sehr aussagekräftig bewertet [8] und in Zukunft darüber entscheiden, ob ein neues Füllungsmaterial für den Markt freigegeben werden kann.

Als Versuchstiere sind wegen ihrer phylogenetischen Nähe zum Menschen Primaten vorgesehen. Ergebnisse aus Versuchen an dieser Spezies sind auf den Menschen übertragbar [6, 8, 10 u. v. a.]. Primaten sind jedoch aggressive und gefährliche Tiere [6], die gegenüber unseren Klimaeinflüssen empfindlich reagieren. Import-Schwierigkeiten, TBC-Quarantäne, Abhängigkeit von den Lieferländern und nicht zuletzt Probleme mit dem Tierschutz kommen hinzu. Diese Nachteile werden besonders bei den anstehenden zahlreichen Routineuntersuchungen ins Gewicht fallen. – Als alternatives Versuchstier bietet sich das Miniaturschwein [14] an. Freß- und Kaugewohnheiten sowie das Abrasionsmuster der Zähne ähneln denen des Menschen [2, 14]. Zahngröße und -form erlauben außerdem die Verwendung normaler zahnärztlicher Instrumente. Die ungefährlichen Tiere sind problemlos in unserer Klimazo-

ne zu halten, die Infektionsgefahr ist gering und die Kosten für Haltung und Ernährung niedrig [2, 14]. Miniaturschweine wurden u. a. von *Hoefig* [4] zur Testung von Füllungsmaterialien verwendet, haben jedoch keinen Eingang in Norm-Entwürfe gefunden.

Gegenstand der vorliegenden Pilot-Studie war es, die technischen Voraussetzungen für die Verwendung dieser Versuchstiere im Rahmen eines Standard-Programmes zur biologischen Testung von Füllungsmaterialien zu untersuchen.

Material und Methode

Als Testmaterial diente ein Silikat-Zement¹, ohne Wundverband appliziert, Zinkoxid-Eugenol² mit einer Amalgam³-Deckfüllung und ein konventionelles Amalgam³.

Die 3 Versuchstiere⁴ mit einem Gewicht von je ca. 40 kg waren zwischen 70 und 80 Wochen alt. Haltung und Behandlung entsprachen den einschlägigen Vorschriften [3, 7]. Unter Narkose (i. v. Nembutal⁵) wurden an den Tieren gemäß den FDI-Angaben [12] Zahnhals-Füllungen gelegt. Die Verweildauer der Materialien im Zahn betrug 4 und 30 Tage. Die Tiere wurden mit einer Überdosis Narkotikum getötet, die A. carotis communis beidseits freipräpariert und der Kopfbereich mit 4 proz. Formalin perfundiert. Zähne und umgebender Kieferknochen wurden mittels Diamantscheibe herausgeschnitten, entkalkt, wie üblich histologisch aufgearbeitet [6, 10] und die ca. 7 µm dicken Serienschritte mit HE gefärbt. Den Auswertungskriterien lagen FDI-Richtlinien zugrunde [12]. Die Gradierung erfolgte von 1 (keine oder unsichere Reaktion) bis 3 (schwere Reaktion).

Ergebnisse und Diskussion

Die Haltung der Tiere war problemlos: es traten keine Infektionskrankheiten auf, die Tiere waren nicht aggres-

* Zentrum für Zahn-, Mund- u. Kieferheilkunde der Universität Tübingen, Abteilung für Zahnerhaltungskunde (Osianderstr. 2–8, D-7400 Tübingen).

1 Silicap, Vivadent, Charge-Nr. 200176

2 Mainland, 6000 Frankfurt, Borsig-Allee 27

3 Amalcap, Vivadent, Charge-Nr. 120977, F 237321

4 Versuchsgut Rellichausen, 3354 Dassel-Rellichausen

5 CEVA GmbH, Eutiner Str. 5, 2360 Bad Segeberg

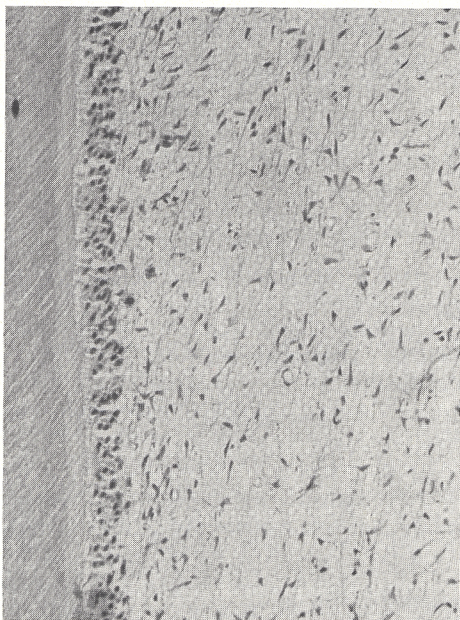


Abb. 1. Pulpareaktion nach Applikation von Zinkoxid-Eugenol. Liegezeit 4 Tage: Entzündungszellfreie mehrreihige Odontoblastenschicht (Reaktionsgrad 1) Vergr. 200:1



Abb. 3. Pulpareaktion nach Applikation von Silikat-zement. Liegezeit 30 Tage: Massive Sekundärdentin-Bildung mit Zelleinschlüssen (Reaktionsgrad 2) Vergr. 80:1

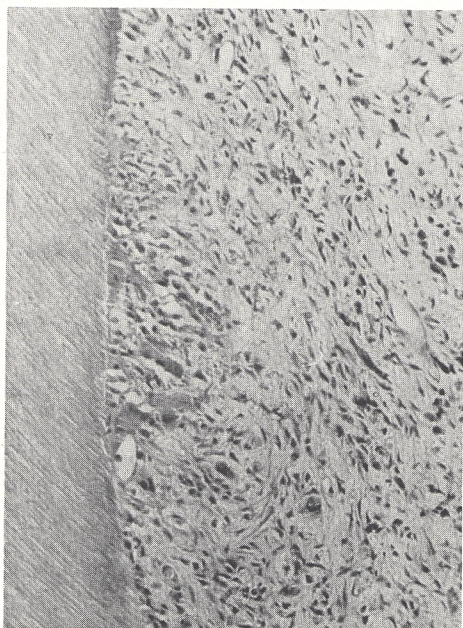


Abb. 2. Pulpareaktion nach Applikation von Silikat-zement. Liegezeit 4 Tage: Zerstörung der Odontoblastenschicht, extravasale Erythrozyten und Leukozyteninfiltration (Reaktionsgrad 3). Vergr. 200:1

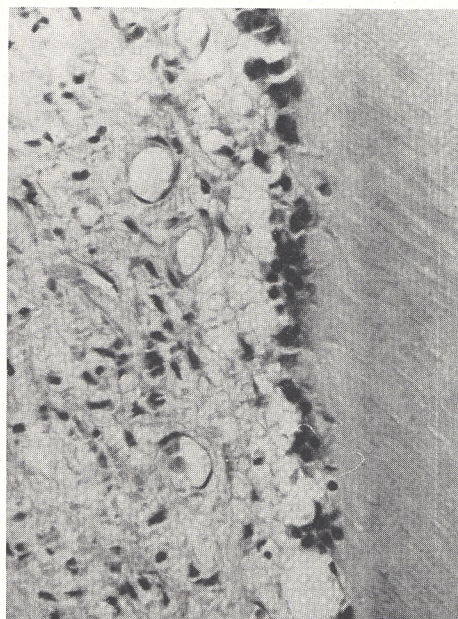


Abb. 4. Pulpareaktion nach Applikation von Amalgam. Liegezeit 30 Tage: Geringe Veränderungen in der Odontoblastenschicht, beginnende Sekundärdentin-Bildung (Reaktionsgrad 1). Vergr. 520:1

siv und leicht einzufangen. Besonders gesicherte Käfige, wie bei Primaten [6], waren nicht erforderlich. Die 6 Narkosen verliefen ohne Zwischenfälle. Bei einer Narkotika-Menge von 0,1 ml/kg Körpergew. und einer letalen Dosis von 0,5 ml/kg Körpergew. ist die Gefahr einer versehentlichen Überdosierung gering. Durch die starke Vorverlagerung des Gesichtsschädels und die breite Maulöffnung der Versuchstiere waren alle Zähne bis zu M2 von bukkal her zugänglich, das Arbeiten technisch einfacher als bei den wesentlich kleineren Rhesus-Affen (vgl. Riethe et al. [10]).

Die Zahnformel der Versuchstiere lautete: i1, i2, I3, C, P1, P2, P3, M1, M2. Nach Bodegom [2] bricht für die bleibende Dentition zuerst M1 im Alter von 15–30 Wochen durch, gefolgt von M2. Anschließend wechseln Eckzähne, Prämolaren zuletzt, im Alter von 80–100 Wochen, die Frontzähne. Die Größe der Molaren, Prämolaren und der OK-Frontzähne beträgt das ca. 1,5fache derjenigen des Menschen. Die Molaren waren wegen ihrer Gestalt zur Aufnahme von 2 bukkalen Füllungen geeignet. Es war somit möglich, pro Tier zwischen 28 und 34 Kavitäten zu präparieren, was im Vergleich zu Primaten mit 28 möglichen Kavitäten als ausreichend angesehen werden kann.

Die mittleren und ersten seitlichen Frontzähne im Unterkiefer (i1, i2, I1, I2) sowie die Eckzähne sind nur mit großen Einschränkungen als geeignet anzusehen, da sie mehr als dreimal so groß waren wie menschliche Zähne und sehr starke Abrasionen aufwiesen, wodurch eine chronische Pulpitis hervorgerufen werden kann [13]. Außerdem waren 42% der unteren Schneidezähne frakturiert.

Karies war an keinem der Zähne zu beobachten, in dunkel verfärbten Fissuren »klebte« die Sonde nicht.

Die von den FDI-Richtlinien [12] empfohlene, jedoch von Hoefig [4] nicht angewandte Methode der Perfusion des Kopfbereiches vor Gewebeentnahme, war wegen der geringen Zahl oberflächlicher Gefäße in der Halsgegend (vgl. Nickel et al. [9]) ohne Schwierigkeiten möglich.

Das histologische Bild der Pulpa nach Applikation von Zinkoxid-Eugenol (Abb. 1) zeigt eine mehrreihige entzündungszellfreie Odontoblastenschicht; eine Weilsche Zone war nicht darstellbar, was den Beobachtungen von Hoefig (4) entspricht. – Eine Zellschädigung durch Silikat-Zement (Abb. 2) zeichnet sich durch eine massive Leukozyten-Infiltration und extravasale Erythrozyten aus. Bei längerer Liegezeit kommt überstürzte Sekundärdentin-Bildung mit Gewebeseinschlüssen hinzu (Abb. 3). Die Reaktion auf Amalgam bei kurzer Liegezeit ist durch eine

geringgradige Ausdünnung des Odontoblastensaumes und das Auftreten weniger neutrophiler Granulozyten gekennzeichnet. Bei 30tägiger Liegedauer war außer einer beginnenden Sekundärdentin-Bildung keine ausgeprägte pathologische Reaktion mehr erkennbar (Abb. 4). Die Entfernung von Kavitätenboden zur Pulpa betrug im Mittel 1,2 mm und war in den 3 Versuchsgruppen nicht signifikant verschieden (Varianzanalyse, $\alpha = 0,05$).

Es zeigte sich, daß die in den FDI-Richtlinien [12] angegebenen Auswertungskriterien, welche auf Primaten und Menschen bezogen sind, auch auf die vorliegenden Präparate von Miniaturschweinen anwendbar waren.

Die Auswertung unserer Versuche (Tab. 1 und 2) ergab, daß Silikat-Zement eine vergleichsweise starke, Zinkoxid-Eugenol keine und Amalgam eine anfänglich moderate, jedoch mit zunehmender Liegezeit abnehmende Pulpareaktion hervorruft. Ein Unterschied zwischen Amalgam und Zinkoxid-Eugenol ist bei 30tägiger Liegezeit auch statistisch (χ^2 -Test, $\alpha = 0,05$) nicht nachweisbar. Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit der experimentellen und klinischen Erfahrung (Literaturübersicht bei Schmalz [11]).

Miniaturschweine sind u. E. im Hinblick auf die technischen Voraussetzungen als gleichwertiger Ersatz für Primaten anzusehen. Eine Übertragbarkeit der an diesen Versuchstieren erhaltenen Ergebnisse auf den Menschen erscheint möglich, jedoch sind ausgedehntere Untersuchungen erforderlich, um dies zu bestätigen.

Tabelle 1. Ergebnisse, 4 Tage Liegezeit (Kontingenz-Tafel)

Material	Reaktionsgrad		
	I	II	III
Silikat	1	2	6
ZnOE	12	0	0
Amalgam	2	8	0

Tabelle 2. Ergebnisse, 30 Tage Liegezeit (Kontingenz-Tafel)

Material	Reaktionsgrad		
	I	II	III
Silikat	0	3	9
ZnOE	12	0	0
Amalgam	8	2	0

Summary

The technical prerequisites for using mini-pigs instead of primates in standardized testing of dental filling materials for pulp tolerance are considered to be favorable. There is a possibility that the histologic findings can be transferred to man, but further investigations are necessary to confirm this.

Schrifttum

1. American dental association: American National Standards Institute/American Dental Association Doc. No 41 for recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. – J. Amer. dent. Ass. 99, 697 (1979).
2. Bodegom, J. C.: Experiments on tooth eruption in miniature pigs. – Med. Diss. Nijmegen, 1969.
3. Bundesgesetzblatt: Tierschutzgesetz v. 24. 7. 1972. – Bundesgesetzbl. 74, 1277 ff (1972).
4. Hoefig, W.: Kurzzeituntersuchungen mit dem Füllungs- werkstoff Palakav. – Dtsch. zahnärztl. Z. 25, 281 (1972).
5. Hügel, H.: Pharmazeutische Gesetzesurkunde. – Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, 1978, S. 98 ff.
6. Klötzer, W. T. und Langeland, K.: Tierexperimentelle Prüfung von Materialien und Methoden der Kronen- und Brückenprothetik. – Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 83, 163 (1973).
7. Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft (KTBL): Taschenbuch für Arbeits- und Betriebs- wirtschaft. – BLV Verlagsgesellschaft, München, 1974, S. 312 ff.
8. Langeland, K. und Klötzer, W. T.: Verfahren zur Prüfung der biologischen Eigenschaften zahnärztlicher Werkstoffe. – Dtsch. zahnärztl. Z. 26, 298 (1971).
9. Nickel, R., Schummer, A. und Seiferle, E.: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Bd. III. – Paul Parey, Berlin und Hamburg, 1976, S. 234 ff.
10. Riethe, P., Rotgans, J. und Schmalz, G.: Tierexperimentelle Prüfungen mit einem neuen Füllungsmaterial (Isocap). – Dtsch. zahnärztl. Z. 33, 609 (1978).
11. Schmalz, G.: Zellkulturen als Standardverfahren zur Prüfung der Gewebeverträglichkeit zahnärztlicher Materialien. – Thieme Verlag, Stuttgart, 1981 (i. Druck).
12. Stanford, J. W.: Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. – Int. dent. J. 30, 140 (1980).
13. Tronstad, L. and Langeland, K.: The effect of attrition on the subjacent dentin and pulp. – J. dent. Res. 50, 17 (1971).
14. Weaver, M. E., Sorenson, F. M. and Jump, E. B.: The miniature pig as an experimental animal in dental research. – Arch. oral Biol. 7, 17 (1962).

Anschrift des Verfassers: Priv.-Doz. Dr. G. Schmalz, Zentrum für Zahn-, Mund- u. Kieferheilkunde, Abteilung für Zahnerhaltung, Universität Tübingen, Osianderstr. 2–8, D-7400 Tübingen

DZZ-Buchbesprechung

Year Book of Dentistry

Von M. L. Hale u. a., Year Book Medical Publ., Chicago, London, 1979. \$ 34.25

Aus über 500 000 einzelnen, in englischer Sprache erschienenen zahnärztlichen Veröffentlichungen, wurden über 300 Arbeiten ausgesucht, im vorliegenden Jahrbuch als Extrakt veröffentlicht. Im Durchschnitt umfaßt jede Arbeit 1–2 Seiten. Wichtig ist, daß wesent-

liche Abbildungen und Tabellen mitveröffentlicht werden. In 18 Abschnitten wird die gesamte Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde erfaßt.

Das Buch stellt damit eine Fundgrube für jeden dar, der sich über die Entwicklung der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde im Jahre 1979 informieren will. Leicht lesbar ist das Buch nicht, es muß studiert werden. Auch fehlt es etwas an Übersichtlichkeit. Trotzdem sollte das Buch in keiner Bibliothek fehlen.

Ketter, Mainz